

[print](#) | [export](#)

**Publication number:** JP2003073395 A2  
**Publication country:** JAPAN  
**Publication type:** APPLICATION  
**Publication date:** 20030312  
**Application number:** JP20010267102  
**Application date:** 20010904  
**Priority:** JP20010267102 20010904 ;  
**Assignee<sup>std</sup>:** MITSUI CHEMICALS INC ;  
**Inventor<sup>std</sup>:** TSUCHIYA KATSUTOSHI ; KOMATSU HIRONORI ;  
**International class<sup>1-7</sup>:** C07H19/173 ; A61K31/708 ; A61P31/12 ; A61P35/00 ;  
**International class<sup>8</sup>:** C07H19/00 20060101 I C ; C07H19/17 20060101 I A ; A61K31/70 20060101 I C ; A61K31/70 20060101 I A ; A61P31/00 20060101 I C ; A61P31/12 20060101 I A ; A61P35/00 20060101 I C ; A61P35/00 20060101 I A ;  
**Title:** ISOLATION AND PURIFICATION OF N-ACYLATED PURINE NUCLEOSIDE DERIVATIVE  
**Abstract:** PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an effective method for isolation and purification of an N-acylated purine nucleoside derivative. SOLUTION: An N-acylated purine nucleoside derivative is isolated as crystals by adding an aqueous acid solution to a high concentration alkaline solution of the N-acylated purine nucleoside derivative to bring to the pH value of the reaction liquid to a weakly acidic range. This process enables the isolation of the N-acylated purine nucleoside derivative in high yield as crystals without needing a concentration process although conventional methods of the isolation and purification need to carry out a concentration process under a neutral or alkaline condition.

**Cited by:** WO05051286 A2 ;

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003-73395

(P2003-73395A)

(43)公開日 平成15年3月12日(2003.3.12)

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>  
C 0 7 H 19/173  
A 6 1 K 31/708  
A 6 1 P 31/12  
35/00

識別記号

F I  
C 0 7 H 19/173  
A 6 1 K 31/708  
A 6 1 P 31/12  
35/00

テマコート<sup>®</sup>(参考)  
4 C 0 5 7  
4 C 0 8 6

審査請求 未請求 請求項の数11 O.L (全 7 頁)

(21)出願番号 特願2001-267102(P2001-267102)

(22)出願日 平成13年9月4日(2001.9.4)

(71)出願人 000003887  
三井化学株式会社  
東京都千代田区霞が関三丁目2番5号  
(72)発明者 土屋 克敏  
千葉県茂原市東郷1144 三井化学株式会社  
内  
(72)発明者 小松 弘典  
千葉県茂原市東郷1144 三井化学株式会社  
内  
Fターム(参考) 4C057 BB02 CC03 DD01 LL42  
4C086 AA03 EA18 MA01 MA04 NA14  
ZB26 ZB33

(54)【発明の名称】 N-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法

(57)【要約】

【課題】効率的なN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法を提供する。

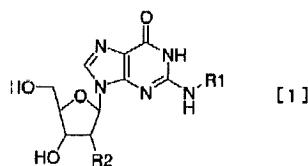
【解決手段】N-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の高濃度塩基性溶液中に酸の水溶液を加え、反応液のpHを弱酸性にまで傾けることでN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体を結晶で単離する。

【効果】これまで、単離精製においては中性あるいは塩基性条件で濃縮しなければならなかつたが、濃縮操作をすることなくN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体を結晶として高収率に単離可能になった。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式〔1〕〔化1〕

〔化1〕



(式中、R<sub>1</sub>は炭素数1～15のアシル基を、R<sub>2</sub>は水素原子、ハロゲン原子又は置換されているアルコキシを表す)で表されるプリンヌクレオシド誘導体の塩基性溶液に、酸性の水溶液を添加することにより該プリンヌクレオシド誘導体を結晶化することを特徴とする、N-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【請求項2】 酸性の水溶液を加添加した後の処理液のpHが2.0以上6.5以下である請求項1に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【請求項3】 酸性の水溶液を加えた後のpHが5.0以上6.5以下である請求項2に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【請求項4】 酸性の水溶液が鉱酸の水溶液である、請求項1から3のいずれか一項に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【請求項5】 鉱酸が塩酸である、請求項4に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【請求項6】 塩基性溶液中の溶媒が水と、炭素数1～5のアルコール、THF、ジオキサン、ピリジン、トリエチルアミン、ジメトキシエタン、アセトニトリル、DMF、DMI、トルエンよりなる群から選ばれる一種以上の溶媒との混合物である請求項1から5のいずれか一項に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【請求項7】 アルコールがメタノール、エタノール、イソプロピルアルコールの少なくとも一種である請求項6に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【請求項8】 全有機溶媒量がプリンヌクレオシド誘導体の10重量倍以下であり、炭素数1から3のアルコール以外の有機溶媒量が一般式〔1〕で表されるプリンヌクレオシド誘導体の2重量倍以下である、請求項6または7に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【請求項9】 塩基が水酸化ナトリウム、水酸化カリウムのいずれかである請求項1から8のいずれか一項に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【請求項10】 塩基性溶液中に酸の水溶液を添加する際の塩基性溶液の温度が10℃以下である、請求項1から9のいずれか一項に記載のN-アシル化プリンヌクレ

オシド誘導体の単離精製法。

【請求項11】 一般式〔1〕においてR<sub>1</sub>はイソブチリ基、R<sub>2</sub>は水素原子を表すことを特徴とする請求項1から10のいずれか一項に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の効率的かつ選択的な単離精製法に関する。尚、本発明においてN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体をN-アシループリンヌクレオシド誘導体ということがある。

【0002】

【従来の技術】近年、ゲノム創薬の進展に伴いアンチセンスDNA医薬などが急速に開発されつつある。それに伴い、原料となるDNAオリゴマー、さらにオリゴマーの原料となる保護化デオキシヌクレオシドの需要が増大している。

【0003】N-アシループリンヌクレオシド誘導体は、N-アシループリンヌクレオシド誘導体は、制癌剤、抗ウイルス剤をはじめとする医薬品や農薬として有用であるとともに、近年開発されつつあるアンチセンスDNAなどの原料としても有用な化合物であり、保護化ヌクレオシド類の原料となる化合物である。これらの化合物は、一般的には1) プリンヌクレオシド誘導体のアミノ基および水酸基をアシル化(パーアシル化)したのちに、水酸基についてアシル基を選択的に脱保護する方法、2) プリンヌクレオシド誘導体のアミノ基および水酸基をすべてシリル化したのちに選択的にN-アシル化を行い、さらにシリル基の脱保護を行う方法、が知られている。

【0004】1) の方法で反応させた場合の例としては、たとえば特開昭58-180500号公報やシンセシス 965頁(1984年)(Synthesis, 965-8, 1984.)、蛋白質・核酸・酵素、26巻、531頁(1981年)などが知られている。これらの場合によれば、加水分解後の生成物を含む希薄な塩基性溶液をビリジニウム型のイオン交換樹脂を通して、酸性に片寄らないように中和を行い、さらに樹脂に付着した化合物を回収するために大量の溶媒で洗浄したのに、集めた溶媒を濃縮または濃縮乾固するため、大量に製造する上では容積効率や操作の面で非常に問題が多い。また、ヘルベチカキミカアクタ、65巻、2372頁(1982年)(Helvetica Chimica Acta, 65, 2372(1982).)においては、アルカリ加水分解後、生成物を含む塩基性溶液を中和したのちに濃縮乾固を行い、さらにアルコールで目的物を溶解抽出し、その溶媒を留去して得られた固体を水より再結晶を行い目的物を得ている。このようないくつかの方法で、加水分解後に濃縮乾固を行っているため、大量製造

には向いていない。

【0005】2) の方法で反応させた例としては、ジャーナル オブ アメリカン ケミカル ソサエティ、104巻、1316頁(1982年)(J. Am. Chem. Soc., 104, 1316 (1982).) や特表平6-507883号公報においては、反応後、アンモニア水存在下の生成物の塩基性反応液をいったん濃縮したのちに、シリル基由来の不純物を分液で除去してから結晶化あるいは再度濃縮を行っており、またPCT出願WO2000/75154号公報では加水分解後、生成物を含む溶液をpHを8から9にコントロールしたのちに濃縮し、やはりシリル基に由来する不純物を有機溶媒に溶解することで除去している。またシンセシス 540頁(1983年)(Syntheses, 540 (1983).)においては、やはりピリジン過剰存在下、濃縮操作を行ったのち、大量のエーテル／ヘキサン混合溶媒中で再沈殿を行った後に、さらに再結晶を行っている。

【0006】このように、これまで知られた方法では濃縮操作を避けることができず、さらに濃縮の際に塩基性条件あるいは中性条件が必要であった。これは、ピリジンや水などの高沸点溶媒を濃縮するためには、高い温度をかける必要があるからである。高温度での酸性溶液中では、一般的にヌクレオシド類のグリコシド結合が切断される可能性が高くなる。また、温度を下げて濃縮操作を行うためには、高減圧下で行う必要があり、大量に製造する際には現実的ではない。一方で、アルカリ性溶液中で濃縮する際には、アルカリ溶液中の高温での安定性が確保される必要がある。しかし、アルカリ溶液中ではN-アミド結合が切断され、もとのヌクレオシド誘導体に戻ってしまう事も知られているため、反応処理時のpHのコントロールが非常に難しく問題があると考えられていた。

#### 【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は濃縮などの煩雑な操作をせずに、N-アシル化プリンヌクレオシド誘導体を単離精製する方法を提供することにある。

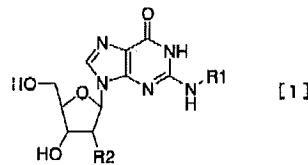
#### 【0008】

【課題を解決するための手段】我々は鋭意検討を重ねた結果、N-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の塩基性溶液に、酸を加えて中和し、さらに酸性にまで溶液のpHを傾けることで、濃縮操作をすることなくN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体を結晶として高収率に単離可能であることを見出し、本発明を完成した。即ち、本発明は、以下のとおりである。

【1】 一般式 [1] [化2]

#### 【0009】

[化2]



【0010】(式中、R1は炭素数1～15のアシル基を、R2は水素原子、ハロゲン原子又は置換されているアルコキシを表す)で表されるプリンヌクレオシド誘導体の塩基性溶液に、酸性の水溶液を添加することにより該プリンヌクレオシド誘導体を結晶化することを特徴とする、N-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【2】 酸性の水溶液を加添加した後の処理液のpHが2.0以上6.5以下である【1】に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【3】 酸性の水溶液を加えた後のpHが5.0以上6.5以下である【2】に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【4】 酸性の水溶液が鉛酸の水溶液である、【1】から【3】のいずれか一項に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【5】 鉛酸が塩酸である、【4】に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【6】 塩基性溶液中の溶媒が水と、炭素数1～5のアルコール、THF、ジオキサン、ピリジン、トリエチルアミン、ジメトキシエタン、アセトニトリル、DMF、DMI、トルエンよりなる群から選ばれる一種以上の溶媒との混合物である【1】から【5】のいずれか一項に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【7】 アルコールがメタノール、エタノール、イソプロピルアルコールの少なくとも一種である【6】に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【8】 全有機溶媒量がプリンヌクレオシド誘導体の10重量倍以下であり、炭素数1から3のアルコール以外の有機溶媒量が一般式【1】で表されるプリンヌクレオシド誘導体の2重量倍以下である、【6】または【7】に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【9】 塩基が水酸化ナトリウム、水酸化カリウムのいずれかである【1】から【8】のいずれか一項に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【10】 塩基性溶液中に酸の水溶液を添加する際の塩基性溶液の温度が10°C以下である、【1】から【9】のいずれか一項に記載のN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体の単離精製法。

【11】 一般式【1】においてR1はイソブチリル基、R2は水素原子を表すことを特徴とする【1】から【10】のいずれか一項に記載のN-アシル化プリンヌ

## クレオシド誘導体の単離精製法。

[0011]

【発明実施の形態】以下、本発明を詳細に説明する。一般式〔1〕で表されるN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体において、R1における炭素数1から15のアシル基とは、直鎖状、あるいは分岐して、さらにその先が置換されてもよいアルキルアシル基またはシクロアルキルアシル基、置換されてもよいベンゾイル基等を表す。たとえばアルキルアシル基の例としては、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、n-ブチリル基、イソブチリル基、2-メチルブチリル基、3-メチルブチリル基、ピバロイル基、バレリル基、2-メチルバレリル基、カブロイル基、ヘプタノイル基、オクタノイル基、デカノイル基等が挙げられる。シクロアルキルカルボニル基の例としては、シクロプロパンカルボニル基、シクロヘキサンカルボニル基、シクロペンタンカルボニル基等が挙げられる。

【0012】置換されてもよいベンゾイル基におけるフェニル基上の置換基は、無置換でもよいしフェニル基上の2位、3位、4位のいずれかの位置に置換基があってもよい。また、複数の位置に置換基があってもよい。複数の置換基がある場合はその置換基は同一であってもそれぞれ異なるものであってもよい。

【0013】フェニル基上の置換基の例としてはたとえば、メチル基、エチル基、イソプロピル基などのアルキル基、メトキシ基、エトキシ基、n-プロピルオキシ基、i-ブロピルオキシ基などのアルキルオキシ基、ニトロ基、アミノ基、メチルアミノ基、エチルアミノ基、n-ブロピルアミノ基、i-ブロピルアミノ基、ジメチルアミノ基、ジエチルアミノ基などの置換もしくは無置換アミノ基、フルオロ基、クロロ基、ブロモ基などのハロゲン基、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ベンゾイル基などのアシル基、ホルミルオキシ基、アセチルオキシ基、プロピオニルオキシ基、ベンゾイルオキシ基などのアシルオキシ基、ホルムアミド基、アセトアミド基、ベンズアミド基などのアミド基、フェニル基や2-ビリジニル、3-ビリジニル、4-ビリジニルなどの芳香環等が挙げられる。

【0014】置換されてもよいベンゾイル基の具体例としてはたとえば、ベンゾイル基、2-メトキシベンゾイル基、3-メトキシベンゾイル基、4-メトキシベンゾイル基、2-メチルベンゾイル基、3-メチルベンゾイル基、4-メチルベンゾイル基、2-ニトロベンゾイル基、3-ニトロベンゾイル基、4-ニトロベンゾイル基、3-, 5-ジニトロベンゾイル基、2-アミノベンゾイル基、3-アミノベンゾイル基、4-アミノベンゾイル基、4-ジメチルアミノベンゾイル基、2-クロロベンゾイル基、3-クロロベンゾイル基、4-クロロベンゾイル基、2-ブロモベンゾイル基、3-ブロモベンゾイル基、4-ブロモベンゾイル基、3-, 5-ジクロロベン

ンゾイル基、2, 4-ジクロロベンゾイル基、パークロロベンゾイル基、4-フェニルベンゾイル基等が挙げられる。

【0015】R<sub>2</sub>におけるハロゲン基とは、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子を表す。R<sub>2</sub>における置換された水酸基とは、カルボン酸エステル、スルホン酸エステル、エーテル、ウレタン、シリル基などの一般的な水酸基の保護基となりうる置換基により置換された水酸基を表す。水酸基の保護基の例としては、メチル基、エチル基、n-ブロピル基、イソブロピル基、n-ブチル基、i-ブチル基、t-ブチル基、ペンチル基、ベンジル基、2-メトキシベンジル基、3-メトキシベンジル基、4-メトキシベンジル基、2-メチルベンジル基、3-メチルベンジル基、4-メチルベンジル基、メトキシエチル基、エトキシエチル基、ベンジルオキシメチル基、ベンジルオキシエチル基、アセトキシメチル基、アセトキシエチル基、ベンゾイルオキシメチル基、ベンゾイルオキシエチル基、メトキシエトキシエチル基、プロパルギル基、アリル基等のアルキル基またはアルキル基の先にさらに置換されたアルキル基、フェニル基、2-メトキシフェニル基、3-メトキシフェニル基、4-メトキシフェニル基、4-フェニルフェニル基、2-ピリジニル基、3-ピリジニル基、4-ピリジニル基等のアリール基、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ベンゾイル基、2-メトキシベンゾイル基、3-メトキシベンゾイル基、4-メトキシベンゾイル基、2-メチルベンゾイル基、3-メチルベンゾイル基、4-メチルベンゾイル基、2-ニトロベンゾイル基、3-ニトロベンゾイル基、4-ニトロベンゾイル基、4-フェニルベンゾイル基、2-クロロベンゾイル基、3-クロロベンゾイル基、4-クロロベンゾイル基などのアシル基、アミノカルボニル基、ジメチルアミノカルボニル基、メチルアミノカルボニル基、エチルアミノカルボニル基、ジエチルアミノカルボニル基、フェニルアミノカルボニル基などのウレタン基、メタンスルホニル基、エタンスルホニル基、ベンゼンスルホニル基、2-メチルベンゼンスルホニル基、3-メチルベンゼンスルホニル基、4-メチルベンゼンスルホニル基、トリフルオロメタンスルホニル基、トリクロロメタンスルホニル基等のスルホン酸エステル基、トリメチルシリル基、トリエチルシリル基、t-ブチルジメチルシリル基、t-ブチルジフェニルシリル基などのシリル基が挙げられる。

【0016】R2の置換された水酸基の例としてはたとえば、メトキシ基、エトキシ基、n-プロピルオキシ基、イソブロピルオキシ基、n-ブチルオキシ基、i-ブチルオキシ基、t-ブチルオキシ基、ペンチルオキシ基、ベンジルオキシ基、2-メトキシベンジルオキシ基、3-メトキシベンジルオキシ基、4-メトキシベンジルオキシ基、2-メチルベンジルオキシ基、3-メチ

ルベンジルオキシ基、4-メチルベンジルオキシ基、メトキシエチルオキシ基、エトキシエチルオキシ基、ベンジルオキシメトキシ基、ベンジルオキシエトキシ基、アセトキシメトキシ基、アセトキシエトキシ基、ベンゾイルオキシメトキシ基、ベンゾイルオキシエトキシ基、メトキシエトキシエトキシ基、プロパルギルオキシ基、アリルオキシ基、フェニルオキシ基、2-メトキシフェニルオキシ基、3-メトキシフェニルオキシ基、4-メトキシフェニルオキシ基、4-フェニルフェニルオキシ基、2-ピリジニルオキシ基、3-ピリジニルオキシ基、4-ピリジニルオキシ基、ホルミルオキシ基、アセチルオキシ基、プロピオニルオキシ基、ベンゾイルオキシ基、2-メトキシベンゾイルオキシ基、3-メトキシベンゾイルオキシ基、4-メトキシベンゾイルオキシ基、2-メチルベンゾイルオキシ基、3-メチルベンゾイルオキシ基、4-メチルベンゾイルオキシ基、2-ニトロベンゾイルオキシ基、3-ニトロベンゾイルオキシ基、4-ニトロベンゾイルオキシ基、4-フェニルベンゾイルオキシ基、2-クロロベンゾイルオキシ基、3-クロロベンゾイルオキシ基、4-クロロベンゾイルオキシ基、アミノカルボニルオキシ基、ジメチルアミノカルボニルオキシ基、メチルアミノカルボニルオキシ基、エチルアミノカルボニルオキシ基、ジエチルアミノカルボニルオキシ基、フェニルアミノカルボニルオキシ基、メタンスルホニルオキシ基、エタンスルホニルオキシ基、ベンゼンスルホニルオキシ基、2-メチルベンゼンスルホニルオキシ基、3-メチルベンゼンスルホニルオキシ基、4-メチルベンゼンスルホニルオキシ基、トリフルオロメタンスルホニルオキシ基、トリクロロメタンスルホニルオキシ基、トリメチルシリルオキシ基、トリエチルシリルオキシ基、t-ブチルジメチルシリルオキシ基、t-ブチルジフェニルシリルオキシ基などが挙げられる。

【0017】塩基性溶液とは、塩基性物質を溶解させた溶液のことを表す。塩基としては水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化セシウム、炭酸リチウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸セシウム、アンモニア、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ピリジン、N-メチルピペリジン、N-メチルピロリジン、N-メチルモルホリンなどが挙げられる。中でも水酸化ナトリウム、水酸化カリウムが好ましい。溶媒としては、水および水と有機溶媒の混合溶媒が挙げられる。混合溶媒中の有機溶媒としては、たとえばメタノール、エタノール、n-ブロパノール、イソブロパノール、n-ブタノール、エチレングリコール、ジエチレングリコール、エチレングリコール、エチレングリコールモノメチルエーテルなどのアルコール類、アセトン、メチルエチルケトンなどのケトン類、アセトニトリル、プロピオニトリルなどのニトリル類、THF、ジオキサン、ジメトキシエタン、ジエトキシエタンなどのエーテル類、DMF、DMIなど

どのアミド類、ジメチルスルホキシドなどのスルホキシド類、トリエチルアミン、ピリジン等の塩基類、ジクロロメタン、クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素類、トルエン、ベンゼンなどの芳香族化合物などが挙げられるが、なかでもたとえばメタノール、エタノール、n-ブロパノール、イソブロパノール、n-ブタノール、エチレングリコール、アセトン、アセトニトリル、THF、ジオキサン、ジメトキシエタン、DMF、DMI、ピリジン、トリエチルアミンおよびそれらの混合溶媒が好ましく、さらに好ましくはメタノール、エタノール、n-ブロパノール、イソブロパノール、ピリジン、アセトニトリルおよびそれらの混合溶媒である。

【0018】塩基の濃度については、塩基が溶解可能な範囲であれば特に問題はないが、0.1モル/L以上の溶液であることが望ましく、さらに望ましくは1モル/L以上の溶液である。塩基の量は、N-アシル化プリンヌクレオシド誘導体に対して0.5倍以上10倍以下が望ましい。

【0019】塩基性溶液中の有機溶媒の量は、N-アシル化デオキシプリンヌクレオシド誘導体が溶解できれば特に規定されないが、一般式〔1〕で表されるプリンヌクレオシド誘導体の1重量倍以上、20重量倍以下が望ましく、さらに望ましくは1重量倍以上、10重量倍以下である。さらにそのうちアルコール以外の有機溶媒量は1重量倍以上、5重量倍以下が望ましく、さらに望ましくは3重量倍以下である。

【0020】酸の溶液を添加する操作の際の温度については、混合溶媒の凝固点以上室温までの範囲で設定可能であるが、温度の上昇により加水分解やグリコシド結合の切断が起こりやすくなることをふまえ、望ましくは混合溶媒の凝固点以上、10°C以下であり、さらに望ましくは混合溶媒の凝固点以上5°C以下である。

【0021】中和に用いる酸としては、無機および有機の酸が挙げられる。具体的には、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、ほう酸、トリフルオロ酢酸、酢酸、クエン酸、磷酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸などが挙げられるが、好ましくは塩酸、臭化水素酸、硫酸であり、さらに好ましくは塩酸である。

【0022】酸の濃度については、酸が溶解可能な範囲であれば特に問題はないが、0.1モル/L以上の溶液であることが望ましく、さらに望ましくは1モル/L以上の溶液である。酸の添加量については、結晶が析出すれば特に制限されないが、塩基性条件ではアミドの加水分解が進行し、酸性が強いとグリコシド結合が徐々に分解して行くため、pH 2以上7未満になるように加えることが望ましく、さらに望ましくはpH 5以上6.5以下になるように加えることが望ましい。

【0023】結晶の析出の際には、熟成時間を置くこともできる。熟成時間は結晶が十分析出するのに要する時間あればよいが、10分から24時間が望ましく、さら

に好ましくは30分から12時間である。

【0024】原料となるN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体は、対応するプリンヌクレオシド誘導体をたとえば特開昭58-180500号公報やシンセシス965項(1984年)(*Synthesis*, 965, 1984.)、蛋白質・核酸・酵素26巻531項(1981年)、ヘルベチカキミカアクタ65巻2372項(1982)(*Helvetica Chimica Acta*, 65, 2372(1982).)などの方法、参考例1に例示した方法などにより合成可能である。このようにして合成したN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体は粗生成物のままでも、一旦精製を行ったうえでも利用できる。

【0025】以上の発明により、N-アシル化プリンヌクレオシド誘導体を濃縮などの操作を経ることなく効率的に単離精製することができるようになった。

#### 【0026】

【実施例】以下に実施例をあげて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらによって限定されるものではない。

#### 【0027】参考例1

2'-デオキシグアノシン1水和物 140gをピリジン280mLで2回共沸脱水した後、ピリジン890mLに懸濁させた。氷冷下イソブチリクロリド263gを滴下した後、氷冷下2時間攪拌した。反応マスを氷水2000g中に空けた後、ジクロロメタンで抽出した。有機層を10%塩化ナトリウム水溶液で洗浄した後乾燥、溶媒留去して363gまで濃縮した。この粗反応物をエタノール1100gに溶解し、-5°Cまで冷却した後、水酸化ナトリウム118gの水1355g溶液を5°C以下を保ちながら滴下してさらに2時間攪拌した。反応マスをHPLCでモニターすることによりN-イソブチリル-2'-デオキシグアノシンが生成していることを確認した。

#### 【0028】実施例1

参考例1に基づき調整したN-イソブチリル-2'-デオキシグアノシン溶液中に6%塩酸水溶液1170gを氷冷下滴下したのち、30分間攪拌した。析出した結晶をろ過した後に結晶を水200gで2回洗浄し、減圧下50°Cで乾燥することにより、N2-イソブチリル-2'-デオキシグアノシン144g(2'-デオキシグアノシンよりの収率87%)を白色固体として得た。標品とNMRスペクトルが一致することにより構造を確認した。この際、汎液中のpHは6.2であった。

#### 【0029】参考例2

2'-デオキシグアノシン1水和物 9.0gをピリジン22mLで2回共沸脱水した。ピリジン60mLに懸濁させた後、-2°Cまで冷却し、イソブチリクロリド16.7mLを滴下した。氷冷下で1時間、さらに室温で1時間攪拌した後、氷水180g中に滴下した。ジク

ロロメタンで抽出した後有機層を飽和食塩水で洗浄、乾燥、溶媒留去して得た粗生成物26.3gをイソプロピルアルコール100mLに溶解した。冷却した後水酸化ナトリウム7.1gの水88g溶液を滴下したのち2時間氷冷下で攪拌した。反応液のサンプルをHPLCで分析することによりN-イソブチリル-2'-デオキシグアノシンが生成していることを確認した。

#### 【0030】実施例2

参考例2により調整した塩基性溶液中に、6%塩酸水溶液を5°C以下を保ちながら滴下していったところ、約40g滴下したところで結晶が析出してきた。この時のpHは6.5であった。そのまま30分攪拌した後ろ過し、結晶を水200mLで2回洗浄したのち減圧下50°Cで10時間乾燥することにより、N2-イソブチリル-2'-デオキシグアノシン8.79g(2'-デオキシグアノシンよりの収率82.6%)を白色固体として得た。

#### 【0031】参考例3

2'-デオキシグアノシン1水和物 11gをピリジン27mLで2回共沸したのち、ピリジン70mLに懸濁させた。氷冷下イソブチリクロリド20.3mLを加えた後、氷冷で1時間、室温で2時間攪拌した。氷水220g中に空けた後、ジクロロメタンで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、乾燥、溶媒留去して25.5gまで濃縮した。イソプロピルアルコール100mLに溶解したのち、氷冷下水酸化ナトリウム9.6gの水96g溶液を滴下した後、2時間氷冷下で攪拌した。6%塩酸水溶液53gを氷冷下滴下した後氷冷下で1時間攪拌した。析出した結晶をろ過したのち、得られた結晶を水200mLで2回洗浄した。結晶を50°C減圧下加熱乾燥することにより、N2-イソブチリル-2'-デオキシグアノシン6.00g(収率46%)を白色固体として得た。この際の汎液のpHは9.7であった。

#### 【0032】比較例1

2'-デオキシグアノシン1水和物1.72gをピリジン11mLと2回共沸したのち、ピリジン2.5gとジクロロメタン17gを加えた。この懸濁液に氷冷下イソブチリクロリド3.44gのジクロロメタン13mL溶液を加えた後、室温で2時間攪拌した。氷水130g中に滴下した後、ジクロロメタンで抽出した。有機層を乾燥、溶媒留去したのち、トルエンおよびヘキサンで共沸し4.1gにまで濃縮した。このうち0.95gにエタノール20mLを加えて溶解した。この溶液を4°C~5°Cに保ちながら2N水酸化ナトリウム水溶液15mLを20分間かけて滴下したのち、氷冷下で15分間攪拌した。反応液を0°Cまで冷やした後、2N塩酸水溶液でpH7.0になるまで加えた。この時点では結晶は析出しなかった。このまま20°C以下を保ちながら溶媒を減圧濃縮し、さらにエタノールを加えて共沸脱水して固体化した。得られた固体物にエタノール20mLを加え、

(7) 開2003-73395 (P2003-73395A)

5分間懸濁させた後さらに40°Cで5分間攪拌した。不溶物をろ過で除いた後、さらに固体に20mLのエタノールを加え5分間懸濁させた後40°Cで5分間攪拌し、ろ過した。沪液を濃縮乾固したのちに50°Cの水60mLに溶解し、活性炭30mgを加え、10分間攪拌した。活性炭をろ過した後に、この溶液を徐々に冷却し、析出した結晶を沪取り、40°Cで減圧乾燥した。白色固

体を0.34g（収率約72%）得た。

【0033】

【発明の効果】これまで、単離精製においては中性あるいは塩基性条件で濃縮しなければならなかったが、濃縮操作をすることなくN-アシル化プリンヌクレオシド誘導体を結晶として高収率に単離可能になった。